

## 综述与专论

## 低水有机介质中的酶催化

杨 镇

*(Center for Biotechnology, Chemical Engineering Department, University of Pittsburgh, Pittsburgh, PA 15261, USA)*

D. A. ROBB

*(Department of Bioscience and Biotechnology, University of Strathclyde, Glasgow G4 0NR, UK)*

计亮年

*(中山大学生物工程研究中心, 广州 510275)*

**摘要** 酶不仅在水溶液里催化化学反应,而且能在有机介质中显示催化活性.其中低水溶剂体系对有机合成最为有利.文章就低水溶剂体系中影响酶催化的三要素(水、溶剂和载体)以及酶在该体系表现出来的一些特殊性质进行了讨论,并列举了低水溶剂体系中的酶催化在有机合成,化学分析,和分子化学等方面的应用.

**关键词** 酶催化, 酶活性, 有机介质, 低水溶剂体系

众所周知,酶作为一种高效生物催化剂,能在十分温和的条件下起高效率的催化作用,并且具有高度的区域选择性和立体专一性.因此,它有着化学催化剂所无可比拟的优越性,已经广泛应用在食品工业、药物工业和洗涤剂工业<sup>[1]</sup>.应该指出,这些应用大多数都是在水溶液中进行的.然而,由于普遍认为酶只有在水溶液里才能维持其催化活性结构,而有机合成更常用到的有机溶剂只能使酶变性或失活,因此酶在有机合成方面的应用受到很大程度的限制.

不错,水是参与了所有维持酶活性结构的非共价作用力(即静电作用、范德华力、疏水基相互作用和氢键),所以水对酶的催化起着必不可少的作用.但是可以想象,只要保证这些基本必需的水分子固定在酶分子表面,其它的大部分水是完全可能被有机溶剂取代而不影响酶的活性的.确实,研究结果已经表明,酶在有机介质中不仅能同样起催化作用,酶活性有

时甚至与在水溶液中获得相当或者超出,而且还表现出与在水中不同的性质,并具有如下的优越性<sup>[1-6]</sup>: a. 有利于疏水性物质的反应; b. 能催化在水里不能进行的反应(如酯基转移); c. 反应平衡向所需方向移动(如酯化反应); d. 减少由水引起的副反应(如水解反应); e. 控制底物专一性; f. 提高酶的稳定性; g. 减少微生物的污染.

酶在有机介质中的应用虽然只有二十多年的历史,却已经取得了很大的进展,有些应用已经接近或达到了商品化的程度<sup>[1]</sup>.例如,可以用脂肪酶催化从一种较便宜的食用油(如棕榈油)向可可油的转化以生产天然可可油的替代品.另一个具有商业价值的例子是在蛋白酶催化下,由L-天氨酸和L-苯丙氨酸甲酯合成低热量却比蔗糖甜200倍的甜蜜素(aspartame, L-aspartyl-L-phenylalanine methyl ester),反

应在非水介质中进行有利于抑制水解反应而使平衡向肽链生成方向移动。还有辣根过氧化物酶催化的苯酚聚合, 用有机溶剂取代水作为反应介质能避免酚的二聚体或三聚体在水中因溶解度低而造成的沉降, 从而使酚树脂的生产成为可能而不必引进高毒性的甲醛。以上的反应在水溶液里都是不可能的, 可见酶在有机介质中的催化大大扩充了酶的应用范围。

有机溶剂中的酶催化已经进行了四种体系的研究: a. 低水溶剂体系; b. 反向胶束体系 (reversed micelles), 酶溶解在非极性溶剂中表面活性剂形成的反向胶束里; c. 单相共溶剂体系 (水/水溶性溶剂); d. 两相体系 (水/水不溶性溶剂)。

本文主要讨论低水溶剂体系。在此体系中, 酶从水的缓冲溶液中冰冻干燥成粉末, 或沉淀出来后吸附到一种惰性载体上, 然后加入到加有少量水的有机溶剂中催化化学反应。各种极性的溶剂都可用, 如二氧杂环己烷、氯仿、辛烷等。常用的载体有硅胶、硅藻土、玻璃珠等。与其它有机体系相比, 低水溶剂体系对有机合成特别有利, 因为产物回收容易, 酶的回收和重复使用也非常方便。酶在这种环境下的催化活性主要受三个因素制约: 体系中的水分, 充当反应介质的有机溶剂, 和吸附酶的载体。要充分利用酶在这一体系所显示出来的优越性, 就必须研究清楚这些基本因素对酶催化的影响。本文试就这方面已取得的结果总结归纳如下:

## 1 水的作用

酶在完全干燥的溶剂里通常没有活性, 但加水却能使酶反应加速。所以, 体系中有足够的水分对酶的催化起着重要的作用。Zaks 和 Klivanov<sup>[7]</sup> 已经通过实验证明, 加入体系中的水会部分进入溶剂部分被酶分子吸附, 酶活性只取决于被酶分子吸收的水分而与溶剂里的水含量无关。因此, 只要有足够的水吸附在酶分子上, 酶在有机溶剂中就应该显示活性。

Rupley 等人<sup>[8]</sup> 从溶菌酶的研究中得出结

论, 一个干蛋白的水合 (hydration) 过程经过四个步骤: 加入的水首先与酶分子表面的带电基团结合, 达到 0—0.07g/g (水/蛋白质); 然后与酶分子表面的极性基团结合 (0.07—0.25g/g); 多出来的水再凝聚到蛋白质分子表面相互作用较弱的部位 (0.25—0.38g/g); 最后, 酶分子表面完全水化, 被一层水分子所覆盖 (0.38g/g, 大约 300 个水分子)。水合过程中酶的蛋白质结构没有显著变化。

虽然水对有机溶剂中的酶催化至关重要, 所需的水量却是因酶而异的。脂肪酶似乎只需要几个水分子<sup>[9]</sup>, 糜蛋白酶吸附了 50 个水分子后就能在辛烷中显示活性<sup>[10]</sup>, 而乙醇脱氢酶、乙醇氧化酶和多酚氧化酶在溶剂中显示催化活性时都有几百个水分子结合在酶分子上, 足够形成一个单水层<sup>[7]</sup>。很有可能真正的酶反应是在环绕着酶分子的水层内进行的, 底物分子必须先由有机相进入水相, 然后才能与酶分子发生作用<sup>[11]</sup>。

由于溶菌酶的活性只有在达到 0.2g/g (水/蛋白质) 的水合程度以上才可测出<sup>[8]</sup>, 而糜蛋白酶和枯草杆菌蛋白酶的情况也相似<sup>[10]</sup>, 因此很有可能蛋白质分子表面的带电基团和部分极性基团的水合是酶催化的先决条件。在无水的条件下, 酶分子的带电基团和极性基团相互作用产生一种非活性的封闭结构, 加入的水充当润滑油, 会使酶分子的柔性增大并通过非共价作用力来维持其催化活性结构<sup>[5,10]</sup>。这种设想已被实验所证实: 当用能形成氢键的甘油、甘露醇或甲酰胺取代部分水加入到溶剂体系中后, 乙醇脱氢酶和多酚氧化酶的活性显著增加<sup>[7]</sup>。Burke 等<sup>[12]</sup> 曾用高分辨率的核磁共振谱研究  $\alpha$ -lytic protease 的活性中心结构, 活性中心内部 His36 的互变异构结构和氢键作用在丙酮、己烷和水中完全一致, 从而第一次用物理方法证实了酶在纯有机溶剂中并不变性。另外, 顺磁标记的乙醇脱氢酶在己烷中的电子自旋共振谱与干酶所得的相同, 在溶剂中加入 1% 的水对酶活性中心的结构并没有明显影响<sup>[13]</sup>。

Affleck 等人<sup>[14]</sup> 对枯草杆菌蛋白酶在四氢

咪喃中催化的研究表明, 加入适量的水能使酶活性中心的极性及其柔性提高, 从而使酶活性急剧上升, 而过量的水则会引起酶活性中心内部水簇的生成, 从而改变酶活性中心的结构, 最终导致酶活性下降。

既然水对酶在有机溶剂中的催化起着如此重要的作用, 就有必要选择一个合适的参数来反映水的作用。早期的研究工作多数采用在整个体系中或在溶剂中加入的水量。但这是不恰当的, 因为加入反应体系中的水会在酶、溶剂和载体之间分配, 只有吸附在酶分子上的水才决定酶的活性。但是, 要测定酶上所吸附的水分比较困难。为此, Halling<sup>[15]</sup>建议采用热力学水活度 (thermodynamic water activity) 的概念。这里, 水活度的定义是在一定的温度压力下, 反应体系中的水蒸汽压和纯水的蒸汽压之比。采用水活度的原因是: a. 水活度的大小直接反映出酶分子上水分的多少, 而与体系中的水含量及所用的溶剂无关<sup>[16]</sup>; b. 低水溶剂体系是一个涉及到固体 (酶和载体)、液体 (含有底物的溶剂) 和气体 (液面上部空间) 的多相体系, 当体系处于平衡状态时各相的水活度相等; c. 水活度的大小易测, 可通过测定与反应物质平衡的液上气体的相对湿度来得到。

因此, 比较酶活性应该在恒定的水活度下进行以避免水的干扰<sup>[15]</sup>。有两种方法可以获得一个恒定的水活度。一种方法是把底物溶液和酶制剂分别与一种无机盐的饱和溶液预平衡以获得一定的水活度, 然后两相混合起来反应<sup>[11,17]</sup>。另一种方法是向干燥的反应混合物中直接加入一种盐的高水合物, 后者释放出部分的水到体系中并部分转化成其低水合物<sup>[11,18,19]</sup>。盐的这对水合物能在一定的温度压力下建立平衡, 从而给出一个恒定的水活度, 所以是一种很好的水活度缓冲剂。由于预平衡法费时, 且不能在反应过程中维持水活度不变, 盐水合物法更具优越性。

## 2 溶剂的选择

有机溶剂作为反应介质, 对酶的催化反应

也起着重要的作用。它能够改变酶的底物专一性<sup>[20,21]</sup>, 区域选择性<sup>[22]</sup>和对映体选择性<sup>[23]</sup>。另外, 酶在不同的溶剂中表现出不同的活性。溶剂是通过在体系中的水、酶以及底物和产物的作用来间接或直接地影响酶活性的:

a. 对吸附在酶上的水分的影响: 溶剂可以夺走吸附在酶表面的必需水分, 使酶活性下降。不同的溶剂根据其极性不同, 水在其中的溶解度也不同, 造成酶的失水程度也会不一样。

b. 对底物和产物的影响: 有机溶液可以直接与底物、产物分子发生反应, 或者可以通过影响底物、产物在水相和有机相中的分配, 从而影响其在酶分子表面的水层中的浓度来改变酶活性<sup>[11]</sup>。后者对易受产物、底物抑制的酶尤为重要。

c. 对酶的直接影响: 溶解在水层中的溶剂分子可以抑制处于水中的酶或使酶失活, 酶与两相界面的直接接触也可导致酶的失活。

很多研究者在这方面已经做了不少工作, 希望通过研究溶剂的作用来找到一种方法帮助选择能表达最佳酶活性的有机溶剂。溶剂的不少性质都曾经被考虑过与酶活性有关, 但普遍公认的参数是  $\lg P$ <sup>[25]</sup>, 即一种溶剂在辛醇/水两相之间的分配系数的常用对数值,  $\lg P$  能直接反映该溶剂的疏水性。通常发现, 在加入等量水的情况下, 溶剂的  $\lg P$  值越高, 酶的活性越大。后来的实验表明不同的溶剂需要的水量不一样。例如, 要达到木瓜蛋白酶的最佳活性表达, 溶剂的疏水性越强 ( $\lg P$  值越高), 要加入的最佳水量越少<sup>[26]</sup>。

事实上, 以上有关  $\lg P$  和最佳水量的实验结果都可以用溶剂对水的亲和能力来解释。根据溶剂的疏水性, 在体系中加入同样多的水, 吸附在酶上的水量却会是完全不同的。  $\lg P$  值越大的溶剂对水的亲和力越弱, 使更多的水保留在酶分子上, 所以酶活性也越大。同样的道理, 要达到一定的酶活性, 就必须保证酶的水合程度一定, 那么在疏水性弱的溶剂中加入的水量就必然要比在疏水性强的溶剂中加入的水量少。因此, 要研究溶剂对酶反应的作用, 就必

须控制酶的水合程度,即在相同的水活度下比较酶活性,以避免水分配行为变化对酶活性的干扰.脂肪酶在五种不同极性的溶剂(从3-戊酮到己烷)中具有相同的最佳水活度<sup>[17]</sup>.

文献中也有不少偏离  $\lg P$  规律报道. Yang 和 Robb<sup>[11]</sup> 还发现,对多酚氧化酶来说,最佳溶剂因底物而异.因此,溶剂对酶催化的作用有待进一步的深入研究.一些新的溶剂参数已经被提出来作为溶剂选择的新依据,如 Hansen 三维溶度参数<sup>[27]</sup>, 变性能力<sup>[28]</sup>, 以及底物和产物的分配系数<sup>[11]</sup>. Ryu 和 Dordick<sup>[29]</sup> 最近指出,有机溶剂可能通过以下三个方面来影响酶的活性及结构: a. 溶剂使底物基态能级下降或使酶-底物络合物中间体的能级升高,从而增大酶反应的活化能来降低酶的反应速度; b. 溶剂分子进入到酶的活性中心,降低其内部极性并加强底物与酶之间形成的氢键,使酶活性下降; c. 有机溶剂的侵入会造成酶三级结构的变化,间接改变酶的活性中心结构来影响酶活性.

### 3 载体的影响

以有机溶剂作为反应介质进行酶催化,最大的好处之一就是酶固定化简单,可以直接用酶的冻干粉,或者是把酶吸附在一惰性载体上(物理吸附法足矣).前一种方法不利于底物分子和酶分子之间的质量扩散,因此后一种方法更佳.

载体材料的选择及其重要性已经引起了相当的重视.载体对酶催化的影响被归纳为以下几个方面<sup>[30]</sup>:

#### 3.1 对底物和产物在有机介质和酶活性中心之间分配的影响

载体根据其疏水性的不同,可以大大改变底物和产物在酶微环境中的局部浓度,从而影响反应速度.例如,固定在聚合物凝胶上的细胞催化下进行的类固醇转化,其反应速度随着凝胶的疏水性增大而增大,而且对疏水性底物尤其明显.载体的这种性质对容易受到底物或

产物抑制的酶影响较大.

#### 3.2 对酶分子上结合水的影响

Reslow 等<sup>[31]</sup> 在研究了吸附在一系列载体上的糜蛋白酶的催化后指出,酶活性取决于载体吸水能力.为此他们专门提出了一个表示载体吸水能力的概念——“载体亲水性(aquaphilicity)”:把各种干燥载体(50mg)与用水饱和过的溶剂(250mg 二异丙醚)混和,平衡后载体上的水量与溶剂中尚存的水量之比即为“载体亲水性”.当反应体系中加入同样 1% (V/V) 的水时,酶活性与各种载体的亲水性之间存在一个明显的反比关系:亲水性较低的载体(如硅藻土)酶活性较高.这个结果可以用酶和载体之间对水的竞争来解释.亲水性高的载体会从溶剂和酶中夺取大量的水,造成酶部分失水从而降低酶活性;而亲水性低的载体却不足以夺取酶的基本水,因此酶能保持它的高活性.当然,采用载体亲水性这个概念有一定的局限性<sup>[32]</sup>,但因其简单且容易测定,还是可以用来进行载体比较从而为载体选择提供依据的.另外还应考虑的因素有载体上酶的负载量、载体的表面积、颗粒大小、内部孔径大小,以及酶与载体之间的相互作用等.

#### 3.3 在恒定水活度下对酶动力学的影响

Adlercreutz<sup>[30]</sup> 研究了吸附在不同载体上的糜蛋白酶和乙醇脱氢酶在各种水活度下的酶活性.他发现酶活性随着水活度的大小而变化,但在一定的水活度下,酶活性随载体不同而变化很大.这说明在酶的水合程度相同的条件下,载体对酶的动力学有直接的影响.此外,载体还能够影响同一个酶同时催化的两个反应的相对速度.在低水活度下把糜蛋白酶固定在聚酰胺载体 Accurel PA6 上,水解反应被抑制但却有利于醇解反应的进行.

#### 3.4 酶在固定化过程中的部分失活

酶吸附到载体上的固定化过程会引起部分酶分子的失活,特别是当少量的酶吸附到表面积较大的载体上.如果加入某些添加剂(如蛋白质和聚乙二醇),酶的失活现象可以减弱.

## 4 酶在低水溶剂中的一些特殊性质

结构分析表明, 酶在有机介质中具有刚性结构. 正是这种刚性结构使酶在有机介质中表现出许多与在水溶液中不同的性质<sup>[2,5]</sup>:

a. pH 记忆 (pH memory) 和分子印记 (molecular imprinting)

有机溶剂中的酶活性取决于酶在冻干成粉末或吸附在载体上之前所溶解的水的缓冲溶液的 pH 值. 最佳酶活性恰好与酶在水溶液中的最佳 pH 值吻合. 这说明酶能“记住”它最后存在过的水溶液的 pH 值<sup>[34]</sup>. 原因是在水溶液中酶分子的可电离基团获得与该水溶液的 pH 值相一致的电离状态, 由于酶的刚性结构, 这种状态在冰冻干燥过程和分散到有机溶剂中之后仍然得到保持. 因此, 酶必须先含最佳 pH 值的水的缓冲溶液中冻干或沉淀出来. 另外, Russell 和 Klibanov<sup>[35]</sup>发现当枯草杆菌蛋白酶从含有一种竞争性抑制剂的水溶液中冻干出来后再把所有抑制剂除去, 该酶在辛烷中催化酯化反应的速度明显比从不含抑制剂的水溶液中冻干出来的增大. 这很可能是因为竞争性抑制剂在酶分子里产生了一种把酶激活的结构变化, 这种变化在除去抑制剂后由于酶结构在无水条件下的高度刚性而得到保持.

b. 底物专一性的改变

酶在有机溶剂中的刚性结构直接导致了其底物专一性的改变. 例如在酯基转移反应中, 干的脂肪酶与湿酶相反, 对底物三级醇完全没有活性. 很可能是因为干酶缺乏结构的可动性, 不能在活性中心容纳三级醇这种体积庞大的底物分子<sup>[20]</sup>. 底物专一性改变的另一个原因可以从酶与底物之间成键的自由能的利用方面来解释. 当辛烷取代水作为反应介质时, 糜蛋白酶、枯草杆菌蛋白酶和羧酸酯酶的底物专一性均完全逆转<sup>[21]</sup>. 因为在水溶液里, 酶活性中心的极性基团和底物分子分别与水形成氢键, 所以越亲水的底物与水形成的氢键越强, 也就越需要更多的能量来破坏它们之间的氢键以有利于酶底物络合物的形成, 导致反应速度相应降低.

而在辛烷中, 因其不能形成氢键, 酶对底物的选择性当然是完全相反的.

c. 酶热力学稳定性的提高

许多酶在有机溶剂中比在水里稳定. 猪胰腺脂肪酶就是一个最明显的例子<sup>[20]</sup>. 以底物本身作为反应介质 (醇加酯), 干的脂肪酶不仅能忍受 100 C 的高温 (其半衰期可长达 26h), 而且它在 100 C 时的活性甚至比在 20 C 时还高. 但该酶的热力学稳定性随着溶剂中水含量的升高而下降. 毫无疑问, 酶热力学稳定性的提高应归功于无水条件下酶的高度刚性结构. 另外一个原因就是酶的几个不可逆失活过程 (如脱氨基、肽链水解、胱氨酸分解) 都需要水, 而这些不可逆过程在低水分介质中都被大大削弱了.

## 5 酶在低水溶剂体系中的应用

低水有机介质中的酶催化具有广泛的应用价值, 可以用在有机合成、化学分析和高分子化学等方面. 应用方面在很多综述文章里已被提及或归纳, 本文不再细述, 仅把较有代表性的例子列于表 1.

本文仅就低水溶剂体系中影响酶催化的几个因素进行了讨论. 这个体系的另一个发展方向是酶修饰<sup>[4]</sup>, 即通过对氨基酸顺序的重新设计来改变酶的物理和化学性质, 使其与有机环境相容, 并提高其在溶剂中的稳定性. 对反应介质的设计和对酶本身的设计这两方面工作的同时, 将会使低水溶剂中的酶催化研究得到迅速的发展.

有机体系的酶催化打破了酶反应只能在水环境中进行的传统观念. 近二十多年来, 这一交叉学科经过生物化学家、化学家和化工专家三方面的密切合作和广泛研究, 已经在理论上和应用上取得了很大的进展. 而且现在, 酶催化还发展到在气相和超临界流体中进行. 可以想象, 非水介质中的酶催化前景辉煌, 将会给生物技术和化学工业带来一场令人瞩目的新的革命.

表 1 酶在低水溶剂体系中的应用

应 用	例 子	所 用 酶	文 献		
有	氧化	甾族化合物的氧化	细胞	[3]	
		环氧化	细胞	[3]	
		脂肪族的羟基化	细胞	[3]	
		芳香族的羟基化	多酚氧化酶	[36]	
机	光学活性物质的合成	醇、酮	乙醇脱氢酶	[6]	
		羧酸及其酯	脂肪酶	[6]	
		氰醇	苯乙醇氧裂解酶	[6]	
合	油和脂肪的精制	棕榈油转化为可可油	脂肪酶	[1]	
		脂肪水解	脂肪酶	[5]	
成	生物表面活性剂的合成			[5]	
		肽的合成	青霉素 G 前体肽的合成	脂肪酶	[5]
			甜蜜素双肽的合成	蛋白酶	[1]
			肽链中插入 D-氨基酸	枯草杆菌蛋白酶	[5]
			由 X-Ala-Phe-OMe 和 Leu-NH <sub>2</sub> 在己烷中 (反应物、产物均不溶) 合成肽	糜蛋白酶	[19]
		其他的专一性合成	甘油的酰基化	脂肪酶	[5]
糖在无水 DMF 中的酰基化	枯草杆菌蛋白酶		[24]		
	醇、甘油衍生物、糖和有机金属化合物的合成	脂肪酶	[5]		
化 学 分 析	胆固醇的测定 酚的测定	胆固醇氧化酶-过氧化物酶	[3]		
		多酚氧化酶 (酶电极)	[37]		
聚 合	酚的聚合 二酯和二醇的选择性聚合	过氧化物酶	[3]		
		脂肪酶	[5]		
解 聚	木质素解聚	过氧化物酶	[3]		
外消旋混合物的分离	酸的外消旋混合物 醇的外消旋混合物 胺的外消旋混合物	脂肪酶	[38]		
		羧酸酯酶、脂肪酶	[6]		
		枯草杆菌蛋白酶	[39]		

## 参 考 文 献

- Zaks A, Empic M, Gross A. Trends Biotechnol, 1988; **6**: 272
- Klibanov A M. Trends Biochem Sci, 1989; **14**: 141
- Dordick S D. Enzyme Microb Technol, 1989; **11**: 195
- Arnold F H. Trends Biotechnol, 1990; **8**: 244
- Gupta M N. Eur J Biochem, 1992; **203**: 25
- Klibanov A M. Acc Chem Res, 1990; **23**: 114
- Zaks A, Klibanov A M. J Biol Chem, 1988; **263** (17): 8017
- Rupley J A, Gratton E, Careri G. Trends Biochem Sci, 1983; **8**: 18
- Valivety R H, Halling P J, Macrae A R. FEBS Lett, 1992; **301**: 258
- Zaks A, Klibanov A M. J Biol Chem, 1988; **263**: 3194
- Yang Z, Robb D A, Halling P J. In: Tramper J *et al.* eds. Biocatalysis in non-conventional media. Amsterdam: Elsevier, 1992: 585
- Burke P A, Smith S O, Bachovchin W W *et al.* J Am Chem Soc, 1989; **111**: 8290
- Guinn R M, Skerker P S, Kavanaugh P *et al.* Biotechnol Bioeng, 1991; **37**: 303
- Affleck R, Xu Z-F, Suzawa V *et al.* Proc Natl Acad Sci USA, 1992; **89**: 1100
- Halling P J. Trends Biotechnol, 1989; **7**: 50
- Halling P J. Biochim Biophys Acta, 1990; **1040**: 225
- Valivety R H, Halling P J, Macrae A R. Biochim Biophys

- Acta, 1992; **1118**: 218
- 18 Halling P J. *Biotechnol Techniques*, 1992; **6**: 271
- 19 Kuhl P, Halling P J, Jakubke H-D. *Tetrahedron Lett.* 1990; **31**: 5213
- 20 Zaks A, Klivanov A M. *Science*, 1984; **224**: 1249
- 21 Zaks A, Klivanov A M. *J Am Chem Soc.* 1986; **108**: 2767
- 22 Rubio F, Fernandez-Mayorales A, Klivanov A M. *J Am Chem Soc.* 1991; **113**: 695
- 23 Fitzpatrick P A, Klivanov A M. *J Am Chem Soc.* 1991; **113**: 3166
- 24 Riva S, Chopineau J, Kieboom A P G *et al.* *J Am Chem Soc.* 1988; **110**: 584
- 25 Laane C, Boeren S, Vos K *et al.* *Biotechnol Bioeng.* 1987; **30**: 81
- 26 Stevenson D E, Storer A C. *Biotechnol Bioeng.* 1991; **37**: 519
- 27 Schneider L V. *Biotechnol Bioeng.* 1991; **37**: 627
- 28 Khmel'nitsky Yu L, Mozhaev V V, Belova A B *et al.* *Eur J Biochem.* 1991; **198**: 31
- 29 Ryu K, Dordick J S. *Biochemistry*, 1992; **31**: 2588
- 30 Adlercreutz P. In: Tramper J *et al.* eds. *Biocatalysis in non-conventional media.* Amsterdam; Elsevier, 1992; 55
- 31 Reslow M, Adlercreutz P, Mattiasson B. *Eur J Biochem.* 1988; **172**: 573
- 32 Yang Z. Tyrosinase activity in low-water environments. U. K.; Ph. D. Thesis, Univ. of Strathclyde, 1992
- 33 Adlercreutz P. *Eur J Biochem.* 1991; **199**: 609
- 34 Zaks A, Klivanov A M. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1985; **82**: 3192
- 35 Russell A J, Klivanov A M. *J Biol Chem.* 1988; **263** (24): 11624
- 36 Kazandjian R Z, Klivanov A M. *J Am Chem Soc.* 1985; **107**: 5448
- 37 Hall G F, Best D J, Turner A P F. *Enzyme Microb Technol.* 1988; **10**: 543
- 38 Kirchner G, Scollar M P, Klivanov A M. *J Am Chem Soc.* 1985; **107**: 7072
- 39 Kitaguchi H, Fitzpatrick P A, Huber J E *et al.* *J Am Chem Soc.* 1989; **111**: 3094

## 植物凝集素的超级家族

孙建忠 王克夷

(中国科学院上海生物化学研究所, 上海 200031)

**摘要** 凝集素是一类专一、可逆地和糖类结合的蛋白质. 迄今已经分离纯化并测定了氨基酸序列的凝集素已有不少, 一些凝集素以及它们与配体糖相互结合的复合物的高级结构也已经给出, 许多工作已深入到基因水平. 就目前已有的知识, 说明植物凝集素是一个庞大的蛋白质家族.

**关键词** 植物凝集素, 同源性比较, 蛋白质超级家族

糖和蛋白质的相互作用参与了生物体内许多重要的生理和病理过程, 因此糖结合蛋白也必然会受到人们的重视. 糖结合蛋白的范围很大, 其中研究得较多的是凝集素, 尤其是植物凝集素.

另一方面, 蛋白质结构和功能的研究, 揭示了蛋白质可以分为许多的家族. 已有的证据表明, 植物凝集素是一类非常相关的蛋白质. 那么, 它们究竟是怎样的一类蛋白质? 它们所组成的家族又与植物分类有什么样的关系?

### 1 凝集素的基本特性

一般地, 凝集素是一类非酶, 非抗体的糖结合蛋白<sup>[1]</sup>.

自 1936 年 Sumner 第一个分离纯化植物凝集素——伴刀豆球蛋白 A (Con A) 以来, 对它们的性质, 分子结构及功能已经作了大量的工作. 植物凝集素大多是一类能非共价地和糖类结合的蛋白质, 而其本身可以是不含糖的简

**Enzyme Catalysis in Low-Water Organic Media.** Yang Zhen, D. A. ROBB, Ji Liangnian.

(Center for Biotechnology, Department of Chemical Engineering, University of Pittsburgh, Pittsburgh, PA 15261, USA). *Prog. Biochem. Biophys.* (China), 1994; 21 (2): 98

Enzymes are catalytically active not only in aqueous solution but also in organic media (low-water solvent system, reversed micelles, monophasic cosolvent system, and biphasic organic/aqueous system). Of special interest is the low-water solvent system, because it is important to organic synthesis. In this review, attention is focused on the factors that influence enzyme catalysis in a low-water solvent including the role of water, selection of the solvent and support, some special properties acquired by enzymes in such a system are discussed. Examples of applications with the use of enzymes in organic synthesis, analysis, and polymer chemistry, are listed.

**Key words** enzymatic catalysis, enzyme activity, organic media, low-water solvent system

**The Superfamily of Plant Lectins.** Sun Jianzhong, Wang Keyi.

(Shanghai Institute of Biochemistry Academia Sinica, Shanghai 200031). *Prog. Biochem. Biophys.* (China), 1994; 21 (2): 104

Lectins are a kind of carbohydrate-binding proteins. Though they differ in their carbohydrate specificities, they resemble each other in many physicochemical properties. By now, a lot of plant lectins have been sequenced, and some of their three-dimensional structures have been established. A few lectin genes have been cloned. Comparison of their primary sequences and tertiary structures, we can find that plant lectins are several large groups of homologous

proteins belonging to a superfamily.

**Key words** plant lectins, homology comparison, protein superfamily

**Progress in the Molecular Biological Research on Fibronectin.** Wang Ling, Wang Zhenyi, Qi Zhengwu.

(Shanghai Institute of Hematology, Shanghai Second Medical University, Shanghai 200025). *Prog. Biochem. Biophys.* (China), 1994; 21 (2): 109

Fibronectin (Fn) is a high molecular dimer of glycoprotein with a series of discrete structural domains. It is composed of three type repeats, type I, II and III. A serial repeats form a functional domain. There is only one Fn gene in body, and by alternative splicing it produces many kinds of Fn polypeptides, which have different sequences in three variable regions. Fn is involved in a variety of biological functions. It is very important to elucidate the relationship between the function and structure relationship by deeply analysing the structures of its domains and gene.

**Key words** fibronectin, repeats, alternative splicing

**Progress in Topography of Ribosomal RNA and RNA N-Glycosidase Research (I).** Zhang Jinsong, Liu Wangyi.

(Shanghai Institute of Biochemistry, Academia Sinica, Shanghai 200031). *Prog. Biochem. Biophys.* (China), 1994; 21 (2): 113

The  $\alpha$ -sarcin domain of 28S rRNA is involved in protein synthesis reaction catalyzed by ribosomes. It was demonstrated that trichosanthin is an RNA N-glycosidase, and a new method for RNA N-glycosidase assay was preliminarily established. Trichosanthin cleaves the supercoiled double-stranded DNA to produce nicked